



TITLE:

赤外分光分析による蓚酸カルシウム 1水化物と2水化物の定量方法の検討

AUTHOR(S):

森口, 英男; 原, 暢助; 戸塚, 一彦; 徳江, 章彦

CITATION:

森口, 英男 ...[et al]. 赤外分光分析による蓚酸カルシウム 1水化物と2水化物の定量方法の検討. 泌尿器科紀要 1991, 37(1): 1-5

ISSUE DATE:

1991-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/117098>

RIGHT:

赤外分光分析による蔘酸カルシウム 1 水化物と 2 水化物の定量方法の検討

自治医科大学泌尿器科学教室 (主任: 徳江章彦教授)

森口 英男, 原 暢助, 戸塚 一彦, 徳江 章彦

ESTIMATION OF THE WEDDELLITE TO WHEWELLITE RATIO BY INFRARED SPECTROSCOPY

Hideo Moriguchi, Yosuke Hara, Kazuhiko Tozuka
and Akihiko Tokue

From the Department of Urology, Jichi Medical School

Powder samples of 56 calcium oxalate stones the contents of weddellite, whewellite and apatite of which had been determined by thermogravimetry (TG) were studied by infrared spectroscopy (IR). When the ratio of the weddellite content to the total of weddellite and whewellite (weddellite ratio) calculated using Oka's method on the infrared spectra was compared with that determined previously by TG, the correlation coefficient between these ratios was 0.734. For the 24 calcium oxalate stones the apatite content of which was less than 10%, the correlation coefficient between these ratios was 0.976, although the weddellite ratio calculated using Oka's method was significantly higher than that determined by TG ($P < 0.01$).

In an attempt to estimate the weddellite to whewellite ratio by IR regardless of the content of apatite, the ratio of the depth of the absorption band at 780 cm^{-1} (H_{780}) to the depth of the absorption band at $1,320\text{ cm}^{-1}$ (H_{1320}) was compared with the ratio of the whewellite content to the total of whewellite and weddellite contents determined by TG. The correlation coefficient between these ratios was 0.953. We conclude that the ratio of H_{780} to H_{1320} determined from the infrared spectra obtained from a 0.3 to 1 mg powder sample of calcium oxalate stone is useful in the estimation of the weddellite to whewellite ratio.

(Acta Urol. Jpn. 37: 1-5, 1991)

Key words: Infrared spectroscopy, Weddellite, Whewellite

緒 言

蔘酸カルシウム結石は 1 水化物結石と 2 水化物結石に分類され、2 水化物結石は 1 水化物結石と比べ再発しやすいことが指摘されている¹⁾。したがって、2 水化物結石患者ではより厳重な経過観察が必要となる。本邦では、赤外分光分析による蔘酸カルシウム 1 水化物と 2 水化物の定量方法が森口²⁾、岡ら³⁾によって報告されているが、いまだ広く臨床に応用されるには至っていない。その理由として、森口の方法では結石試料 1 mg の秤量という煩雑な操作が要求されること、また、岡らの方法に関しては結石試料に応用できるのか不明であることがあげられる。われわれはすでに Bellanato ら⁴⁾が報告した定量方法は蔘酸カルシウム結石の定量分析には応用できないことを指摘した²⁾。

今回は、森口と岡らが報告した定量方法を再検討するとともに、結石試料 1 mg の秤量という煩雑な操作を省くために森口の方法を一部修正したので、ここに報告する。

材 料 と 方 法

熱分析にて蔘酸カルシウム 1 水化物 (whewellite)、2 水化物 (weddellite)、蔘酸カルシウム (apatite) の含有量が判明している蔘酸カルシウム結石 56 個の粉末試料を対象とした⁵⁾。結石試料 1 mg と KBr 150 mg から錠剤を作製し、日本分光製 A-3 型 (測定域 $5,000\text{ cm}^{-1} \sim 330\text{ cm}^{-1}$, 以下 A-3) と Beckman 社製 620 MX 型 (測定域 $4,000\text{ cm}^{-1} \sim 600\text{ cm}^{-1}$, 以下 620MX) を用いて赤外分光分析を行った。つぎに、結石試料 1 mg を含む錠剤 1 個を二分し、それぞれに KBr を加

えて 150 mg としてから十分に混和し、2 個の錠剤を作製した。このようにして、結石試料 1 mg を含む錠剤 15 個から結石試料 0.3~0.7 mg を含む錠剤 30 個を作製し、620MX にて分析した。

蔞酸カルシウム 1 水化物と 2 水化物の和に対する 2 水化物の割合 (以下、2 水化物含有率) は、(1) 森口の定量方法⁶⁾ と (2) 岡らの定量方法³⁾ により赤外線スペクトル上で求め、熱分析結果から求めた含有率と比較した。つぎに、(3) $1,320\text{ cm}^{-1}$, $1,100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$, 780 cm^{-1} の吸収帯の深さの比を求め、熱分析結果から求めた蔞酸カルシウムの割合と蔞酸カルシウム 1 水化物の割合と比較した。

結 果

(1) 620MX によって得られた結石試料 1 mg の赤外線スペクトルは、前回報告時のもの²⁾ とほぼ同じであったので、以下 A-3 によって得られた赤外線スペクトルについて検討した。

920 cm^{-1} の吸収帯の深さ (x) mm と 2 水化物含有量 (y) % の間には、620MX によって得られた赤外線スペクトル上 $y=8.5x+35.4$ の回帰式が成立した⁶⁾。しかし、この回帰式は 620MX 以外の機種では成立しない。そこで、A-3 によって得られた赤外線スペクトルで weddellite score²⁾ が 8 点となる結石試料では、含有される蔞酸カルシウムはすべて 2 水化物であると仮定し、上述の回帰式を修正した。すなわち、2 水化物含有量 (y) % は、A-3 によって得られた赤外線スペクトル上で測定した 920 cm^{-1} の吸収帯の深さ (x) mm から $y=12.8x+35.4$ により求めた。2 水化物含有率は 2 水化物含有量/蔞酸カルシウム含有量として求められるが、蔞酸カルシウム含有量は $1,100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ と $1,320\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さの比から別に求めた (後述)。

2 水化物含有量が結石試料 1 mg の 35% 以下になると、 920 cm^{-1} の吸収帯は不明瞭となるが²⁾、32 結石試料でこの吸収帯の深さが測定可能であった。これより求めた 2 水化物含有率は熱分析結果と $r=0.916$ ($p<0.01$) の相関を有し、回帰式は $y=1.2x-18.0$ であった (Fig. 1)。

(2) 岡らが 2 水化物含有率の測定に用いた 660 cm^{-1} と 610 cm^{-1} の吸収帯の吸光度比は 620MX の測定域では求められないので、以下 A-3 によって得られた赤外線スペクトルについて検討した。蔞酸カルシウム結石 56 個について、この吸光度比を求め、岡らが報告した回帰式により 2 水化物含有率を求めた。熱分析結果から求めた含有率と比較すると、両者の間には $r=$

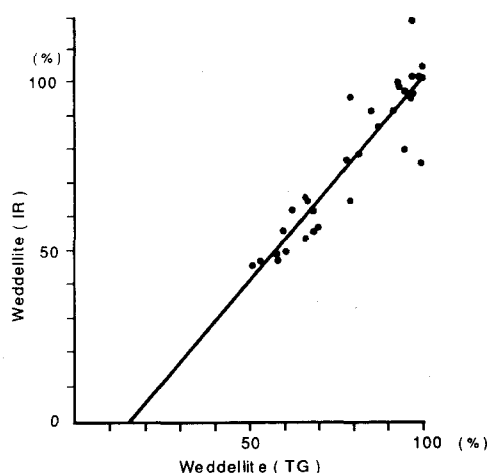


Fig. 1. Relationship between the weddellite ratio computed from H_2O_2 and that determined by TG ($n=32$, $r=0.916$)

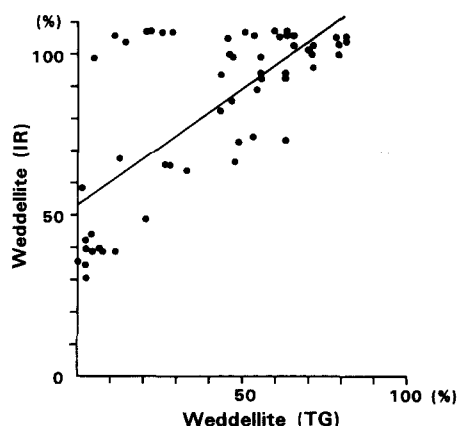


Fig. 2. Relationship between the weddellite ratio calculated using Oka's method and that determined by TG ($n=56$, $r=0.734$)

0.734 ($p<0.01$) の相関は認められるが、実際の 2 水化物含有率 (熱分析結果) が低値であっても、赤外分光分析により求めた含有率が極端に高値を示す場合があることがわかる (Fig. 2)。蔞酸カルシウムの存在が岡らの定量方法に影響を及ぼすと考え、蔞酸カルシウム含有量が 10% 以下である蔞酸カルシウム結石 24 個について同様の検討を行うと、 $r=0.976$ ($p<0.01$) の相関が認められた (Fig. 3)。しかし、岡らの方法により求めた 2 水化物含有率は実際の含有率よりも有意に高く ($p<0.01$)、2 水化物を含有しない結石試料でも 30~40% の 2 水化物含有率を示した。

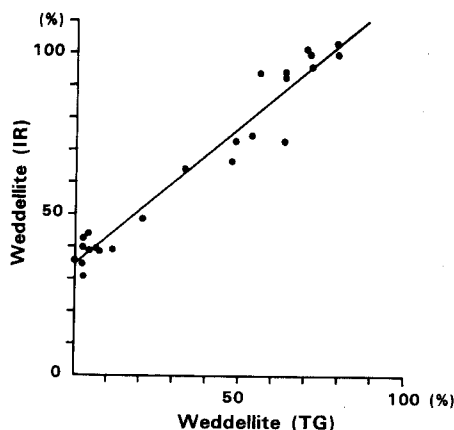


Fig. 3. Relationship between the weddellite ratio calculated using Oka's method and that determined by TG ($n=24$, $r=0.976$)

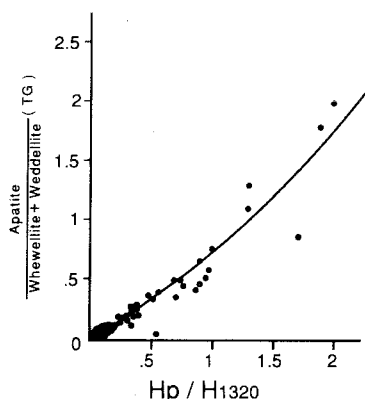


Fig. 4. Correlation between the ratio of the apatite content to the total of whewellite and weddellite determined by TG and the ratio of the depth of the absorption band at $1,100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ (H_p) to H_{1320} ($n=56$, $r=0.971$)

(3) $1,320\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さ H_{1320} , $1,100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さ H_p , 780 cm^{-1} の吸収帯の深さ H_{780} は, それぞれ蔞酸カルシウム含有量, 蔞酸カルシウム含有量, 蔞酸カルシウム 1 水化物含有量と相関した²⁾. そこで, A-3 と 620MX によって得られた蔞酸カルシウム結石 56 個の赤外線スペクトル上で, これらの吸収帯の深さを測定し, 各吸収帯の深さの比について検討した.

H_p/H_{1320} と熱分析により求めた蔞酸カルシウム含有量/蔞酸カルシウム含有量を比較すると, A-3 では $r=0.972$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=0.0943x^2+0.882x-0.0319$ となった. 620MX では r

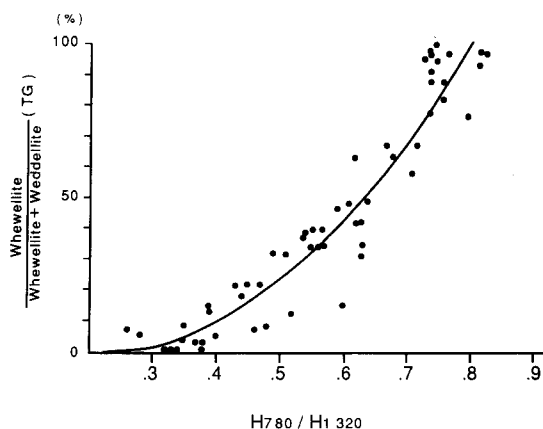


Fig. 5. Correlation between the ratio of the whewellite content to the total of whewellite and weddellite determined by TG and the ratio of H_{780} to H_{1320} ($n=56$, $r=0.953$)

$=0.971$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=0.0533x^2+0.738x-0.0394$ となった (Fig. 4). H_{780}/H_{1320} と熱分析により求めた蔞酸カルシウム 1 水化物含有量/蔞酸カルシウム含有量 (1 水化物含有率) を比較すると, A-3 では $r=0.950$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=359x^2-184x+25.4$ となった. 620MX では $r=0.953$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=276x^2-109x+9.33$ となった (Fig. 5).

結石試料 1 mg を含む錠剤と同じ結石試料 0.3~0.7 mg を含む錠剤について, H_p/H_{1320} から求めた蔞酸カルシウム含有量を比較した. 結石試料 1 mg の赤外線スペクトルから求めた蔞酸カルシウム含有量 (x) と 0.3~0.7 mg の赤外線スペクトルから求めた蔞酸カルシウム含有量 (y) の間には, $r=0.995$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=0.92x+8.7$ であった. 同様に H_{780}/H_{1320} から求めた 1 水化物含有率を比較すると, 結石試料 1 mg の赤外線スペクトルから求めた 1 水化物含有率 (x) と 0.3~0.7 mg の赤外線スペクトルから求めた 1 水化物含有率 (y) の間には, $r=0.983$ ($p<0.01$) の相関が認められ, 回帰式は $y=0.81x-1.6$ であった.

考 察

典型的な蔞酸カルシウム 1 水化物結石と 2 水化物結石は, その外観, 硬さ, 剖面の性状などから容易に識別できる. しかし, 蔞酸カルシウム結石は, 通常, 1 水化物と 2 水化物から構築されており, 1 水化物は中心部, 2 水化物は周辺部を占めている. したがって, 結石試料の採取部位により, 1 水化物と 2 水化物の割

合はかなり異なることが予測される。われわれは中心部と周辺部から均等に結石試料を採取してきたが、こように採取した結石試料から尿酸カルシウム結石を1水化物結石と2水化物結石に分類すると、2水化物結石は1水化物結石と比べて有意に再発率が高いことはすでに報告した⁷⁾。

赤外線スペクトル上で 920 cm^{-1} の吸収帯の深さを測定すれば、森口らが報告した回帰式⁶⁾の応用により2水化物含有量が容易に求められることを示した。しかし、結石試料1mgを秤量していなければ、また、2水化物含有量の低い結石試料では、この方法により1水化物と2水化物の割合を求めることはできない。 780 cm^{-1} と $1,320\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さの比によれば、結石試料を秤量しなくても、すべての尿酸カルシウム結石で1水化物含有率を求めることができる。しかし、結石試料1mgと0.3~0.7mgの赤外線スペクトルの比較から、結石試料が多いと1水化物含有率が高く測定される傾向があるので注意する必要がある。 H_{780}/H_{1320} から1水化物含有率を求める際には、1mg以上の結石試料を用いるべきではないと考えられる。A-3と620MXによって得られた2次回帰曲線が酷似していることは、機種の違いが深さの比に与える影響は無視できることを示している。しかし、深さの比から1水化物含有率を求める際には、1水化物と2水化物の結石試料から検量曲線を作成しておくことが望ましい。結石断面の放射状構造と結石表面の針状結晶に着目すれば、weddelite score²⁾が0点の1水化物結石試料と8点の2水化物結石試料の作製は容易であろう。

尿酸カルシウム1水化物の結石試料1mgと化学試薬1mgの赤外線スペクトルを比較すると、尿酸カルシウム吸収帯の大きさにかなり差があることがわかる。結石試料1mgの赤外線スペクトルが化学試薬0.5mgの赤外線スペクトルに相当することも、しばしば経験する。同様のことは、化学的に合成した尿酸カルシウム2水化物と結石試料についてもいえる。これは、結石試料に含まれる有機物が結石試料とKBrの混和を妨げており、均質なKBr錠剤の作製を困難にしていることに起因すると考えている。Bellanatoらや岡らは尿酸カルシウム1水化物の化学試薬と2水化物結石試料を種々の割合で混合し、尿酸カルシウム吸収帯の吸光度比から検量線を作成した。しかし、こように作成した検量線を尿酸カルシウム結石の定量分析に応用することには問題がある。検量線の作成には、1水化物と2水化物の結石試料を用いるべきであろう。

岡らの定量方法は、尿酸カルシウム含有量が10%以下の尿酸カルシウム結石に対しては優れた方法であるが、尿酸カルシウム含有量の高い尿酸カルシウム結石には応用できない。これは、尿酸カルシウム吸収帯が $1,100\sim 1,000\text{ cm}^{-1}$ とともに 600 cm^{-1} にも出現し、 610 cm^{-1} の2水化物吸収帯と重なるためと考えられる。しかし、 780 cm^{-1} と $1,320\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さの比によれば、尿酸カルシウムの存在には影響されずに1水化物含有率を求めることができる。

結 語

熱分析にて尿酸カルシウム1水化物、2水化物、尿酸カルシウム含有量が判明している尿酸カルシウム結石56個の粉末試料を用いて、赤外分光分析による尿酸カルシウム1水化物と2水化物の定量方法を比較検討した。その結果、

- (1) 2水化物含有量の高い尿酸カルシウム結石では、結石試料1mgの赤外線スペクトル上で 920 cm^{-1} の吸収帯の深さを測定すれば、2水化物含有率を求めることができる。
- (2) 尿酸カルシウム含有量の低い尿酸カルシウム結石では、 660 cm^{-1} と 610 cm^{-1} の吸収帯の吸光度比から2水化物含有率を求めることができる。
- (3) 780 cm^{-1} と $1,320\text{ cm}^{-1}$ の吸収帯の深さの比によれば、すべての尿酸カルシウム結石で1水化物含有率が求められることを示した。

文 献

- 1) Koide T, Itatani H, Yoshioka T, et al.: Clinical manifestations of calcium oxalate monohydrate dihydrate urolithiasis. *J Urol* **127**: 1067-1069, 1982
- 2) 森口英男: 赤外分光分析による尿酸カルシウム結石の定量分析. *日泌尿会誌* **77**: 1485-1492, 1986
- 3) Oka T, Koide T and Sonoda T: Estimation by infrared spectrophotometer of the calcium oxalate dihydrate to calcium oxalate monohydrate ratio. *J Urol* **134**: 813-817, 1985
- 4) Bellanato J, Cifuentes Delatte L, Hidalgo A, et al.: Application of infrared spectroscopy to the study of renal stones. In: *Urinary Calculi. Recent Advances in Aetiology, Stone Structure and Treatment. Proceedings of the International Symposium on Renal Stone Research. Madrid, 1972.* Edited by Delatte LC, Rapado A and Hodgkinson A. pp. 237-246, S. Karger, Basel, 1973
- 5) 戸塚一彦, 大場修司, 徳江章彦, ほか: 自然排出された上部尿路結石の熱分析. *日泌尿会誌* **76**: 348-353, 1985

- 6) 森口英男，戸塚一彦，米瀬泰行：赤外線，X線および熱分析による結石分析．腎と透析（臨時増刊号）：445-450，1987
- 7) 原 暢助，戸塚一彦，森口英男，ほか：蓚酸カル

シウム結石の定量分析の臨床的意義．日泌尿会誌
78：2345-2346，1987

(Received on March 7, 1990)
(Accepted on May 24, 1990)